

Bakteri Endofit Asal Berbagai Akar Tanaman sebagai Agens Pengendali Nematoda Puru Akar *Meloidogyne incognita* pada Tomat

Endophytic Bacteria From Root of Several Plants as Biocontrol Agents of the Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* on Tomato

Ankardiansyah Pandu Pradana, Abdul Munif*, Supramana
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Infeksi nematoda puru akar (NPA) *Meloidogyne incognita* pada tomat dapat menyebabkan kehilangan hasil. Keefektifan kelompok bakteri endofit asal akar tanaman sebagai agens pengendali NPA sampai saat ini masih belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kelompok bakteri endofit dari 16 jenis akar tanaman yang efektif sebagai agens pengendali NPA. Bakteri diisolasi menggunakan medium NA 20%, NA 50%, TSA 20%, TSA 50%, dan Kings' B. Bakteri yang menunjukkan hasil negatif pada uji hipersensitif dan aktivitas hemolisis diuji kemampuannya dalam menghasilkan enzim protease dan kitinase, dan sianida. Bakteri endofit yang sama juga diuji kemampuannya mengendalikan *M. incognita* juvenil 2 pada tomat dengan perlakuan perendaman benih dan penyiraman suspensi. Peubah agronomi dan patologi diukur 40 hari setelah infestasi nematoda. Sebanyak 80 kelompok bakteri endofit berhasil diisolasi, 17 di antaranya berpotensi sebagai kandidat agens pengendali NPA. Uji fisiologis menunjukkan 16 kelompok menghasilkan protease, 12 kelompok menghasilkan kitinase, dan 5 kelompok menghasilkan senyawa sianida. Kelompok bakteri TmtN5 asal tanaman tomat paling efektif dalam menekan kerusakan akar dan populasi NPA. Kelompok bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim kitinase, protease, dan senyawa sianida. Penelitian ini memberikan informasi baru bahwa kelompok bakteri endofit asal berbagai macam akar tanaman memiliki potensi sebagai agens pengendali NPA.

Kata kunci: enzim litik, pengendalian hayati, uji hemolisis, uji hipersensitif

ABSTRACT

Infection caused by root knot nematode (RKN) *Meloidogyne incognita* may cause yield losses. Little is known regarding the effectiveness of endophytic bacterial group as biocontrol agents of RKN. This research was aimed to obtain endophytic bacteria group from 16 species of plants, which effectively controlled the RKN. Isolation of endophytic bacteria group was conducted using NA 20%, NA 50%, TSA 20%, TSA 50%, and King's B medium. All of the bacteria groups giving negative result in hypersensitive and haemolytic tests, was further examined for their ability to produce protease, chitinase, and cyanide acid. The same endophytic bacteria groups were also tested for their potential to control juvenile 2 of *M. incognita* on tomatoes by seed treatment and soil drenching. Agronomical and pathological traits were observed 40 days after nematodes infestation. Eighty endophytic bacteria groups were successfully isolated and 17 of them were considered potential. Physiological test showed that 16 groups of endophytic bacteria can produce protease enzyme, 12 groups can produce chitinase enzyme, and 5 groups can produce cyanide acid. Specific endophytic bacteria group, i.e. TmtN5 from roots of

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362. Surel: abdulmunif@ipb.ac.id

tomato plant, is the most effective isolate for suppressing root damage and population of RKN. This group was effective as biocontrol agents of RKN because it produces chitinase, protease, and cyanide acid. This research provided a new information regarding the potential use of endophytic bacteria group as a biocontrol agent of RKN.

Key words: biological control, hemolysis test, hypersensitive test, lytic enzymes

PENDAHULUAN

Infeksi *Meloidogyne incognita* pada tanaman tomat menyebabkan terbentuknya puru pada akar. Keberadaan puru dapat mengganggu sistem distribusi air dan mineral dari tanah melalui akar ke seluruh bagian tanaman, akar baru tidak muncul, tanaman mudah layu, pertumbuhan terhambat, kerdil, dan pada infeksi parah menyebabkan klorosis (Bartlem *et al.* 2013). Bakteri antagonis yang berpotensi untuk mengendalikan *M. incognita* di antaranya ialah *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens*. Kedua bakteri tersebut diketahui dapat menghasilkan enzim protease dan kitinase yang mampu mendegradasi dinding sel telur dan larva nematoda *M. incognita* dan *M. javanica* (Kalaierasan *et al.* 2006; Harni *et al.* 2007; Lian *et al.* 2007; Tian *et al.* 2007).

Keefektifan isolat tunggal bakteri endofit sebagai agens pengendali nematoda puru akar (NPA) sudah dilaporkan oleh Hallmann *et al.* (2001) dan Munif *et al.* (2015). Keduanya melaporkan bakteri endofit mampu menekan populasi dan tingkat infeksi NPA pada tanaman. Namun sampai saat ini masih sedikit laporan mengenai keefektifan gabungan 2 atau lebih isolat bakteri endofit sebagai agens pengendali *M. incognita*. Menurut Mei dan Flinn (2010) gabungan 2 atau lebih isolat bakteri endofit memiliki potensi lebih besar untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan dan meningkatkan produksi tanaman dibandingkan dengan penggunaan isolat tunggal. Laporan mengenai kombinasi 2 atau lebih bakteri endofit untuk mengendalikan patogen tumbuhan telah dilaporkan oleh Berg dan Hallmann (2006), yaitu menggabungkan 2 isolat bakteri endofit untuk menekan pertumbuhan cendawan patogen tumbuhan. Namun keefektifan

kelompok bakteri endofit yang merupakan seluruh bakteri yang dapat ditumbuhkan pada medium buatan dari bagian suatu tanaman sebagai agens pengendali patogen tumbuhan masih belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan mendapatkan kelompok bakteri endofit dari akar berbagai tanaman yang efektif mengendalikan *M. incognita* pada tomat dan mengidentifikasi aktivitas fisiologi bakteri tersebut.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Kelompok Bakteri Endofit

Kelompok bakteri endofit diisolasi dari bagian akar tanaman bambu (*Bambusa bambos*), mint (*Coleus amboinicus*), bit merah (*Beta vulgaris*), gingseng (*Talinum triangulare*), pecah beling ungu (*Strobilanthes crispus*), pacar air (*Impatiens balsamina*), tomat (*Lycopersicum esculentum*), sereh (*Cymbopogon nardus*), padi (*Oryza sativa*), tithonia (*Tithonia diversifolia*), kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*), binahong (*Anredera cordifolia*), jinten (*Nigella sativa*), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), garut (*Maranta arundinacea*), dan cabai rawit (*Capsicum frutescens*). Sebanyak 1 g akar tanaman dicuci sampai bersih dan disterilkan permukaannya dengan merendamnya dalam alkohol 70% selama 1 menit, NaOCl 1% selama 1 menit dan dibilas dengan akuades steril 3 kali. Sampel dikeringkan dengan tisu steril kemudian ditempelkan pada medium *tryptic soy agar* (TSA) dan diinkubasi selama 2 hari. Akar yang steril dimaserasi sampai halus dengan penambahan air 1:10. Selanjutnya sebanyak 0.1 mL suspensi diambil dan diisolasi pada medium TSA 20%, TSA 50%, *nutrient agar* (NA) 20%, NA 50%, dan Kings'B lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari (Lodewyckx *et al.* 2002).

Penapisan Kelompok Bakteri Endofit

Pengujian Hipersensitifitas. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan setiap kelompok bakteri endofit pada medium tumbuh sesuai medium asal bakteri tersebut (TSA 20%, TSA 50%, NA 20%, NA 50%, dan Kings B) selama 48 jam. Seluruh koloni yang tumbuh dipanen menggunakan 1 mL akuades steril. Suspensi tersebut diinfiltrasikan ke daun tanaman tembakau. Kelompok bakteri yang menimbulkan gejala nekrosis pada daun tembakau dalam waktu 48 jam tidak digunakan dalam uji lanjut karena berpotensi sebagai patogen (Heath 2000).

Pengujian Aktivitas Hemolisis. Kelompok bakteri ditumbuhkan pada medium agar-agar darah dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Isolat bakteri yang menghasilkan toksin β -hemolisis akan membentuk zona bening disekitar koloni, dan yang menghasilkan toksin α -hemolisis akan membentuk zona agak gelap disekitar koloni (Salasia *et al.* 2004). Kelompok bakteri yang menunjukkan toksin β -hemolisis atau α -hemolisis tidak digunakan dalam uji lanjut karena berpotensi membahayakan kesehatan manusia.

Pengujian Keefektifan Kelompok Bakteri Endofit Sebagai Agens Hayati Nematoda

Kelompok bakteri diinokulasikan pada 100 mL medium *tryptic soy borth* (TSB), *nutrient borth* (NB), dan Kings B cair, sesuai dengan medium asal kelompok bakteri, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Benih tomat disterilkan menggunakan alkohol 70% selama 40 detik, Tween 20 selama 1 menit, dan dibilas dengan akuades 3 kali. Benih tomat direndam dalam suspensi bakteri dengan kerapatan 10^8 cfu mL⁻¹ selama 24 jam, kemudian disemai, dan ditanam di rumah kaca. Penanaman dilakukan mengikuti pola rancangan acak kelompok dengan 5 ulangan, setiap ulangan terdiri atas 2 tanaman uji yang ditanam pada pot yang berbeda. Sebanyak 300 *M. incognita* juvenil 2 diinokulasikan pada tanaman uji yang berumur 1 bulan. Inokulum *M. incognita* yang digunakan merupakan hasil perbanyakan di laboratorium. Pada minggu

pertama, ke-2, dan ke-5 setelah inokulasi nematoda, tanaman disiram dengan 100 mL suspensi kelompok bakteri dengan kerapatan 10^8 cfu mL⁻¹.

Peubah yang diamati, yaitu panjang akar (ujung pangkal batang sampai dengan ujung akar terpanjang), populasi nematoda pada akar dan tanah, serta tingkat kerusakan akar didasarkan pada skala Zeck dengan skala 1 sampai dengan 10 (Zeck 1971). Populasi nematoda di dalam tanah dihitung dari ekstraksi 200 mL tanah menggunakan metode flotasi sentrifugasi. Populasi nematoda di akar dihitung dengan pewarnaan akar. Jumlah nematoda yang terwarnai dihitung dari 1 g akar. Pengamatan dilakukan pada 40 hari setelah inokulasi nematoda (Munif *et al.* 2013).

Karakterisasi Sifat Fisiologis Kelompok Bakteri Endofit

Pengujian Aktivitas Proteolitik. Uji proteolitik dilakukan pada medium *skim milk agar* (SMA). Kelompok bakteri digores pada medium SMA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24–72 jam. Aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri (Baehaki dan Budiman 2011).

Pengujian Aktivitas Kitinolitik. Uji produksi kitinase dilakukan pada medium kitin 1%. Kelompok bakteri digores pada medium dan diinkubasi pada suhu 27 °C. Adanya aktivitas kitinolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar bakteri setelah diinkubasi 3 hari (Hariprasad *et al.* 2011).

Pengujian Produksi Senyawa Sianida. Uji produksi senyawa sianida mengacu pada metode yang dideskripsikan oleh Ahmad *et al.* (2008). Produksi senyawa sianida dideteksi dengan larutan *cyanide detection solution* (CDS) yang mengandung 2 g asam pikrat dan 8 g natrium karbonat dalam 200 mL akuades steril. Kelompok bakteri digoreskan pada medium yang mengandung glisin. Potongan kertas saring steril 1 cm × 1 cm dicelupkan ke dalam larutan CDS dan diletakkan pada tutup cawan petri bagian dalam, kemudian

diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hari. Kelompok bakteri yang dapat memproduksi sianida dideteksi dengan adanya perubahan warna pada kertas saring dari kuning menjadi jingga kecokelatan.

HASIL

Sebanyak 80 kelompok bakteri endofit berhasil diisolasi. Kelompok bakteri endofit yang diisolasi dari akar suatu tanaman dan ditumbuhkan pada medium yang berbeda menunjukkan karakter bakteri yang berbeda pula. Perbedaan karakter terlihat dari dominasi warna koloni yang tumbuh (Tabel 1). Hasil penapisan terhadap kelompok bakteri endofit menunjukkan 16 kelompok dapat menyebabkan nekrosis pada uji reaksi hipersensitif, 43 kelompok bakteri menghasilkan toksin β -hemolisin dan 4 kelompok bakteri menghasilkan α -hemolisin. Hasil uji reaksi hipersensitif dan uji aktivitas hemolisis menunjukkan 17 kelompok bakteri endofit aman digunakan untuk uji lanjut.

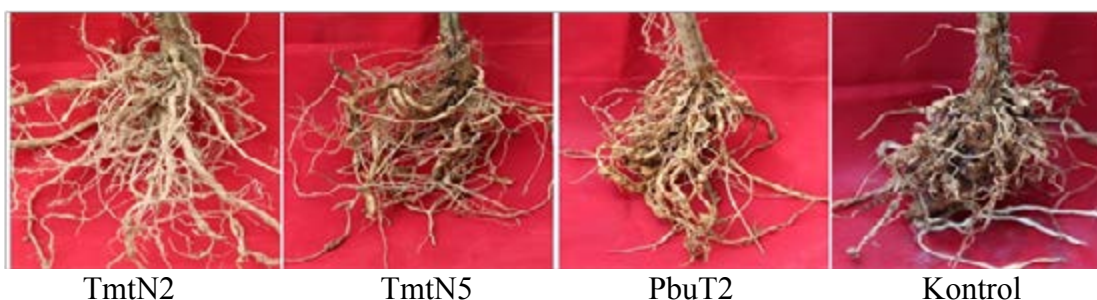
Hasil uji keefektifan kelompok bakteri endofit sebagai agens biokontrol menunjukkan

2 kelompok (11.76%) mampu menekan populasi NPA di akar, 15 kelompok (88.23%) mampu menekan populasi NPA di tanah, 16 kelompok (94.11%) mampu meningkatkan panjang akar tanaman, dan 15 kelompok (88.23%) mampu menekan kerusakan akar akibat infeksi NPA dibandingkan dengan tanaman yang tidak diberi perlakuan kelompok bakteri endofit. Namun demikian kelompok bakteri endofit TmtN5 yang diisolasi dari akar tanaman tomat merupakan kelompok yang paling efektif menekan kerusakan akar akibat infeksi NPA (Gambar 1; Tabel 2). Tanaman yang diberi perlakuan menggunakan kelompok bakteri endofit TmtN5 diketahui mampu menekan 39.01% jumlah NPA di tanah, 42.99% jumlah NPA di akar, 37.14% tingkat kerusakan akar, dan mampu meningkatkan 11.91% panjang akar dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Hasil uji aktivitas fisiologi menunjukkan sebanyak 16 (94.11%) kelompok bakteri endofit menghasilkan enzim protease, 12 (70.58%) kelompok menghasilkan enzim kitinase, dan 5 (29.41%) kelompok menghasilkan senyawa sianida (Tabel 3).

Tabel 1 Dominasi koloni kelompok bakteri endofit asal tanaman pecah beling ungu (*Strobilanthes crispus*) pada media yang berbeda

Media Tumbuh	Dominasi Koloni
Kings B	Koloni berwarna putih dan putih kecokelatan
NA 20%	Koloni berwarna putih kecokelatan, dan beberapa berwarna kuning
NA 50%	Koloni berwarna putih kecokelatan, dan beberapa berwarna kuning, coklat, dan putih susu
TSA 20%	Koloni bakteri dengan warna putih dengan berbagai ukuran
TSA 50%	Koloni berwarna kuning, dan beberapa berwarna putih dan coklat



Gambar 1 Akar tanaman tomat yang diinfeksi *Meloidogyne incognita* setelah diperlakukan dengan kelompok bakteri endofit TmtN2, TmtN5, PbuT2, dan tanpa diberi perlakuan dengan kelompok bakteri endofit.

Tabel 2 Pengaruh aplikasi kelompok bakteri endofit terhadap kerusakan akar dan populasi *Meloidogyne incognita* di tanah dan di akar tanaman tomat

Kode Kelompok	Σ NPA per g Akar ^a	Σ NPA per 200 mL Tanah ^a	Panjang Akar (cm) ^a	Skala Kerusakan Akar ^a
PcrN5	24.60 a	60.10 ab	16.10 de	2.90 cd
PcrT2	24.90 a	54.80 bcd	16.39 cd	2.90 cd
MntT5	22.50 abc	48.80 cde	16.27 cd	2.80 d
BitT2	26.20 a	59.00 abc	16.65 cd	3.00 bcd
GsgN5	27.50 a	53.90 bcd	16.53 cd	3.30 abc
GsgN2	24.80 a	46.70 def	16.44 cd	3.00 bcd
PbuT2	22.30 abc	41.50 ef	16.51 cd	3.00 bcd
JtnT2	25.40 a	50.10 bcde	16.63 cd	3.00 bcd
GsgT2	23.80 a	47.10 def	16.34 cd	3.00 bcd
CbiKB	25.50 a	42.20 ef	16.74 c	3.00 bcd
PbuN5	27.10 a	42.00 ef	16.52 cd	3.40 ab
BitN5	24.30 a	50.10 bcde	16.82 cb	2.90 cd
TmtN2	17.50 bc	44.20 def	17.26 ab	2.60 d
TmtN5	17.20 c	37.40 f	17.57 a	2.20 e
PdiT2	23.10 a	46.20 def	16.39 cd	2.90 cd
PtmN2	25.00 a	43.90 def	16.29 cd	3.00 bcd
PdiN2	22.70 ab	46.40 def	16.63 cd	2.90 cd
Kontrol	28.20 a	65.60 a	15.70 e	3.50 a

^aAngka-angka pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji selang berganda Duncan pada α 5%.

Tabel 3 Karakter fisiologis kelompok bakteri endofit

Kode Kelompok	Asal Kelompok	Aktivitas Proteolitik	Aktivitas Kitinolitik	Produksi HCN
PcrN5	<i>Impatiens balsamina</i>	+	+	-
PcrT2	<i>Impatiens balsamina</i>	+	-	-
MntT5	<i>Coleus amboinicus</i>	+	+	+
BitT2	<i>Beta vulgaris</i>	-	+	-
GsgN5	<i>Talinum triangulare</i>	+	+	+
GsgN2	<i>Talinum triangulare</i>	+	+	-
PbuT2	<i>Strobilanthes crispus</i>	+	+	-
JtnT2	<i>Nigella sativa</i>	+	-	+
GsgT2	<i>Talinum triangulare</i>	+	-	-
CbiKB	<i>Capsicum frutescens</i>	+	-	-
PbuN5	<i>Strobilanthes crispus</i>	+	-	-
BitN5	<i>Beta vulgaris</i>	+	+	-
TmtN2	<i>Lycopersicum esculentum</i>	+	+	+
TmtN5	<i>Lycopersicum esculentum</i>	+	+	+
PdiT2	<i>Oryza sativa</i>	+	+	-
PtmN2	<i>Mimosa pudica</i>	+	+	-
PdiN2	<i>Oryza sativa</i>	+	+	-

+ memproduksi senyawa; - tidak memproduksi senyawa

PEMBAHASAN

Bakteri membutuhkan nutrisi dan kondisi lingkungan khusus agar dapat ditumbuhkan pada medium buatan. Perbedaan jumlah dan kandungan nutrisi dalam medium buatan berpengaruh pada dominasi bakteri yang tumbuh. Hal tersebut diungkapkan oleh Puspita *et al.* (2012) bahwa terdapat dua hal yang memengaruhi dominasi pertumbuhan bakteri dalam medium buatan, yaitu nutrisi medium dan jumlah sel yang terdapat pada suspensi. Sel bakteri yang belum dapat ditumbuhkan pada medium buatan masih memiliki peluang untuk ditumbuhkan apabila ditemukan komposisi medium yang tepat.

Reaksi hipersensitif dipengaruhi oleh gen *hrp* yang dapat ditemui pada kelompok bakteri patogen tanaman *Xanthomonas* sp. Reaksi ini terjadi dalam waktu 24–48 jam dan terlokalisasi. Membran seluler pada daun tanaman tembakau yang mengalami kontak dengan bakteri patogen akan hancur dan nekrosis. Respons tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang kontak dengan daun tanaman tembakau berpotensi sebagai patogen tumbuhan (Zhu *et al.* 2000). Bakteri yang menghasilkan toksin hemolisis tidak digunakan pada uji lanjut karena supernatan dari α dan β hemolisis bersifat sangat *cytotoxic* terhadap *granulocytes*, *monocytes*, dan *lymphocytes* manusia (Duncan *et al.* 2007; Lopes *et al.* 2010).

Kelompok bakteri endofit hidup di dalam jaringan tanaman dan bersifat menguntungkan bagi tanaman. Sebagai agens biokontrol, bakteri endofit dapat melindungi tanaman dari infeksi patogen secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung, bakteri endofit mampu menginduksi ketahanan tanaman (Lodewyckx *et al.* 2002) dengan merangsang pembentukan asam salisilat, peroksidase, fitoaleksin, PR-protein, dan senyawa fenolik (Rosenblueth dan Martínez-Romero 2006).

Secara langsung kelompok bakteri endofit dapat berperan sebagai agens hayati dengan memproduksi senyawa-senyawa antimikrob. Senyawa tersebut berupa enzim, toksin, maupun

gas yang mampu menghambat perkembangan patogen (Chernin *et al.* 2002). Khan *et al.* (2004) melaporkan bahwa enzim protease yang diproduksi oleh cendawan *Paecilomyces lilacinus* mampu menghambat penetasan telur nematoda *M. javanica*. Siddiqui *et al.* (2005) dan Tian *et al.* (2007) menyatakan produksi enzim protease oleh bakteri merupakan salah satu mekanisme bakteri sebagai agens pengendali nematoda puru akar *Meloidogyne* spp. Degradasi lapisan lemak pada telur *M. hapla* yang diberi perlakuan enzim protease menyebabkan banyak telur nematoda yang tidak dapat menetas (Khan *et al.* 2004).

Harni *et al.* (2007) melaporkan bahwa bakteri endofit *Bacillus* galur NJ46, *Bacillus* galur NA22, dan *Bacillus* galur NJ2 mampu menekan populasi nematoda *Pratylenchus brachyurus*. Terjadinya penekanan tersebut disebabkan oleh metabolit sekunder, enzim kitinase, dan protease yang dihasilkan oleh bakteri-bakteri tersebut. Enzim kitinase memiliki peran penting dalam pengendalian nematoda karena enzim ini mampu mendegradasi lapisan tengah telur nematoda seperti *M. javanica*, *Rotylenchulus reniformis*, dan *Tylenchulus semipenetrans* (Tian *et al.* 2007). Cronin *et al.* (1997) menjelaskan enzim kitinase dapat menghambat penetasan telur *Globodera rostochiensis* sampai 70%, dan enzim ini mampu mengendalikan populasi nematoda *M. javanica* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat.

HCN merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri. Senyawa ini diketahui bersifat anticendawan, dan berperan penting dalam pengendalian nematoda (Ramette *et al.* 2003; Devi *et al.* 2007). Keberadaan HCN di dalam tanah mampu menekan perkembangan *M. hapla* sampai dengan 54%. Semakin tinggi jumlah HCN yang ada, kematian nematoda parasit tanaman juga semakin tinggi (Siddiqui *et al.* 2006).

Pada penelitian ini diperoleh 1 kelompok bakteri endofit yang mampu mengendalikan *M. incognita* dengan mekanisme produksi enzim protease, kitinase, dan asam sianida (HCN). Kelompok bakteri tersebut ialah TmtN5 yang diisolasi dari akar tanaman tomat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad F, Ahmad I, Khan M. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res.* 163(2):173–181. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001>.
- Baehaki A, Budiman A. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *J Teknologi dan Industri Pangan.* 22(1):37–42.
- Bartlem DG, Jones MG, Hammes UZ. 2013. Vascularization and nutrient delivery at root-knot nematode feeding sites in host roots. *J Exp Bot.* 65(7):1789–1798. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ert415>.
- Berg G, Hallmann J. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. Di dalam: Schulz B, Boyle C, Sieber T, editor. *Microbial Root Endophytes.* Netherlands (NL): Springer. hlm 53–69. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/3-540-33526-9_4.
- Chernin L, Chet I, Burns R, Dick R. 2002. Microbial enzymes in the biocontrol of plant pathogens and pests. Di dalam: Burns RG, Dick RP, editor. *Enzymes in The Environment: Activity, Ecology, and Applications.* New York (US): CRC Press. hlm 171–226. DOI: <http://dx.doi.org/10.1201/9780203904039.ch7>.
- Cronin D, Moënné-Loccoz Y, Dunne C, O’Gara F. 1997. Inhibition of egg hatch of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by chitinase-producing bacteria. *Eur J Plant Pathol.* 103(5):433–440. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008662729757>.
- Devi KK, Seth N, Kothamasi S, Kothamasi D. 2007. Hydrogen cyanide-producing rhizobacteria kill subterranean termite *Odontotermes obesus* (Rambur) by cyanide poisoning under in vitro conditions. *Curr Microbiol.* 54(1):74–78. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-006-0473-z>.
- Duncan S, Louis P, Flint H. 2007. Cultivable bacterial diversity from the human colon. *Lett Appl Microbiol.* 44(4):343–350. DOI: [10.1111/j.1472-765X.2007.02129.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02129.x).
- Hallmann J, Hallmann AQ, Miller WG, Sikora RA, Lindow SE. 2001. Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *J Phytopathol.* 91(4):415–422. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHTO.2001.91.4.415>.
- Hariprasad P, Divakara S, Niranjana S. 2011. Isolation and characterization of chitinolytic rhizobacteria for the management of Fusarium wilt in tomato. *Crop Protection.* 30(12):1606–1612. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.032>.
- Harni R, Munif A, Supramana, Mustika I. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. *HAYATI J Biosci.* 14(1):7–12.
- Heath MC. 2000. Hypersensitive response-related death. *Plant Mol Biol.* 44(3):321–334. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026592509060>.
- Kalaiarasan P, Lakshmanan P, Rajendran G, Samiyappan R. 2006. Chitin and chitinolytic biocontrol agents for the management of root knot nematode, *Meloidogyne arenaria* in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cv. Co3. *Indian J Nematol.* 36(2):181–186.
- Khan A, Williams KL, Nevalainen HK. 2004. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Bio Control.* 31(3):346–352. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.011>.
- Lian LH, Tian BY, Xiong R, Xu J, Zhang KQ. 2007. Protease from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. *Lett Appl Microbiol.* 45(2007):262–269. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02184.x>.
- Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, Moore ER, Taghavi S, Mezgeay M, der Lelie Dv. 2002. Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Rev*

- Plant Sci. 21(6):583–606. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/0735-260291044377>.
- Lopes AH, Souto-Pradón T, Dias FA, Gomes MT, Rodrigues GC, Zimmermann LT, Alves e Silva T, Vermelho AB. 2010. Trypanosomatids: odd organisms, devastating diseases. Open Parasitol. 4:30–59. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1874421401004010030>.
- Mei C, Flinn BS. 2010. The use of beneficial microbial endophytes for plants biomass and stress tolerance improvement. Recent Pat Biotechnol. 4:81–95. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/187220810790069523>.
- Munif A, Hallmann J, Sikora RA. 2013. The influence of endophytic bacteria on *Meloidogyne incognita* infection and tomato plant growth. J ISSAAS. 19(2):68–74.
- Munif A, Wibowo AR, Herliyana EN. 2015. Bakteri endofit dari tanaman kehutan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat dan agen pengendali *Meloidogyne* sp. J Fitopatol Indones. 11(6):179–186. DOI: <http://dx.doi.org/10.14692/jfi.11.6.179>.
- Puspita ID, Kamagata Y, Tanaka M, Asano K, Nakatsu CH. 2012. Are uncultivated bacteria really uncultivable?. Microbes Environ. 27(4):356–366. DOI: <http://dx.doi.org/10.1264/jsme2.ME12092>.
- Ramette A, Moëne-Loccoz Y, Défago G. 2003. Prevalence of fluorescent pseudomonads producing antifungal phloroglucinols and/or hydrogen cyanide in soils naturally suppressive or conducive to tobacco black root rot. FEMS Microbiol Ecol. 44(1):35–43. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01088.x>.
- Rosenblueth M, Martínez-Romero E. 2006. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. Mol Plant Microbe Interact. 19(8):827–837. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>.
- Salasia SIO, Khusnan Z, Lammler C, Zschock M. 2004. Comparative studies on phenol- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. J Vet Sci. 5(2):103–109.
- Siddiqui IA, Haas D, Heeb S. 2005. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. App Environ Microbiol. 71(9):5646–5649. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.71.9.5646-5649.2005>.
- Siddiqui IA, Shaukat SS, Sheikh I, Khan A. 2006. Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. World J Microbiol Biotech. 22(6):641–650. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-005-9084-2>.
- Tian B, Yang J, Zhang K-Q. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. FEMS Microbiol Ecology. 61(2):197–213. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00349.x>.
- Zeck WM. 1971. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. 24:141–144.
- Zhu W, MaGbanua MM, White FF. 2000. Identification of two novel hrp-associated genes in the hrp gene cluster of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. J Bacteriol. 182(7):1844–1853. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.182.7.1844-1853.2000>.